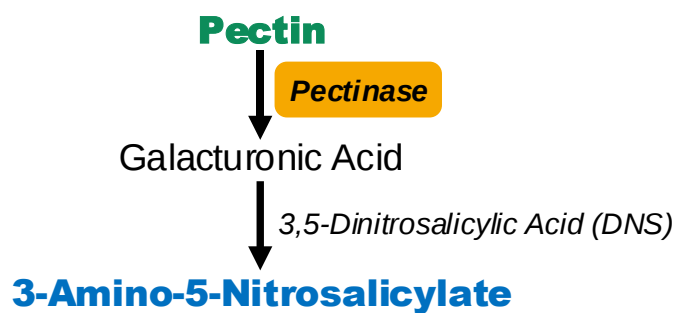




果胶酶活性检测试剂盒

Pectinase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



果胶酶活性检测试剂盒

Pectinase Activity Assay Kit

一、产品描述

果胶酶（Pectinase）是一种能够分解果胶质的复合酶，广泛存在于植物果实和微生物中，主要分为原果胶酶、果胶裂解酶、果胶酯酶和聚半乳糖醛酸酶，其催化作用是多种酶协同作用的结果。果胶酶可以作为食品加工领域的澄清剂，同时在饲料加工、纺织和造纸等领域具有广泛应用。

果胶酶能够水解果胶生成半乳糖醛酸，半乳糖醛酸能够与 DNS 试剂反应生成棕红色物质，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征果胶酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
基质液	组分 A	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分混匀 50°C水浴加热至完全溶解 (配制后-20°C分装保存，有效期三个月)
	组分 B	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	
显色液		液体 25 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品		粉剂×1 支 (10 mg 半乳糖醛酸)	4°C避光保存	使用前加入 943 μ L 蒸馏水充分溶解 (即为 50 μ mol/mL 半乳糖醛酸标准液)
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 50 μ mol/mL 半乳糖醛酸标准液使用蒸馏水稀释至 10、8、6、4、2、1 μ mol/mL 即为标准稀释液。				

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	50	50	50	50	4	2
标准液体积 (μ L)	100	80	60	40	200	200
蒸馏水体积 (μ L)	400	420	440	460	200	200
稀释后浓度 (μ mol/mL)	10	8	6	4	2	1

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样品：直接测定或适当稀释后再进行测定，悬浊样本建议离心后取上清测定。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②灭活粗酶液的制备：吸取适量粗酶液沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
基质液	200	200	200	200
50℃预热 5 min				
粗酶液	50	-	-	-
灭活粗酶液	-	50	-	-
标准稀释液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	-	50
①充分混匀，50℃准确反应 30 min				
②立即沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失）				
③冷却至室温后，10000 g 常温离心 10 min，取上清				
上清液	150	150	150	150
显色液	150	150	150	150
沸水浴显色 5 min（密封以防止水分散失）				
冰浴冷却至室温				

吸光值测定：吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 10、8、6、4、2、1 μ mol/mL 为横坐标（x），对应 ΔA 标准为纵坐标（y）绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定代入方程得到 x（ μ mol/mL）。

3.果胶酶（Pectinase）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 mg 组织蛋白每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{提}} \times T} = \frac{2 \times x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 g 组织每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W \times T} = \frac{2 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 10⁴ 个细菌或细胞每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{2 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：50℃ pH 3.5 条件下，每 mL 液体样本每小时生成 1 μmol 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{Pectinase (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times D}{V_{\text{样}} \times T} = 2 \times x \times D$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间：30 min=0.5 h；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上清液或粗酶液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

